

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(51) МПК

G01N 33/58 (2006.01)

C12Q 1/6806 (2018.01)

C12Q 1/6827 (2018.01)

C12Q 1/686 (2018.01)

C12Q 1/6876 (2018.01)

C12Q 1/6883 (2018.01)

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

G01N 33/582 (2025.08); C12Q 1/6806 (2025.08); C12Q 1/6827 (2025.08); C12Q 1/686 (2025.08); C12Q 1/6876 (2025.08); C12Q 1/6883 (2025.08)

(21)(22) Заявка: 2025114204, 27.05.2025

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
27.05.2025Дата регистрации:
17.11.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 27.05.2025

(45) Опубликовано: 17.11.2025 Бюл. № 32

Адрес для переписки:

308015, г. Белгород, ул. Победы, 85, НИУ
"БелГУ", Крылова Анна Сергеевна

(72) Автор(ы):

Пономарева Татьяна Андреевна (RU),
Алтухова Оксана Борисовна (RU),
Пономаренко Ирина Васильевна (RU),
Чурносов Михаил Иванович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное автономное
образовательное учреждение высшего
образования "Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет" (НИУ "БелГУ") (RU)(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: RU 2557954 C1, 27.07.2015. RU
2678970 C1, 05.02.2019. RU 2550933 C1,
20.05.2015. RUTH K.S. Identification of genetic
and non-genetic factors contributing to female
reproductive ageing. Tesis doctoral. United
Kingdom, 2015, 447 p.

(54) Способ прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом с использованием молекулярно-генетических данных

(57) Реферат:

Изобретение относится к медицине, а именно к гинекологии и медицинской генетике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом. Из периферической венозной крови выделяют ДНК. Проводят анализ комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6. При выявлении комбинации полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 AA гена ZBTB10 x rs10454142 CC гена PPP1R21 x rs17496332 AA гена PRMT6

прогнозируют высокий риск развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом. Способ обеспечивает получение новых критериев оценки риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой, на основе данных о комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6. 4 ил., 3 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

G01N 33/58 (2006.01)*C12Q 1/6806* (2018.01)*C12Q 1/6827* (2018.01)*C12Q 1/686* (2018.01)*C12Q 1/6876* (2018.01)*C12Q 1/6883* (2018.01)(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

G01N 33/582 (2025.08); *C12Q 1/6806* (2025.08); *C12Q 1/6827* (2025.08); *C12Q 1/686* (2025.08); *C12Q 1/6876* (2025.08); *C12Q 1/6883* (2025.08)

(21)(22) Application: **2025114204, 27.05.2025**

(24) Effective date for property rights:
27.05.2025

Registration date:
17.11.2025

Priority:

(22) Date of filing: **27.05.2025**(45) Date of publication: **17.11.2025 Bull. № 32**

Mail address:

**308015, g. Belgorod, ul. Pobedy, 85, NIU "BelGU",
Krylova Anna Sergeevna**

(72) Inventor(s):

**Ponomareva Tatiana Andreevna (RU),
Altukhova Oksana Borisovna (RU),
Ponomarenko Irina Vasilevna (RU),
Churnosov Mikhail Ivanovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniia "Belgorodskii gosudarstvennyi
natsionalnyi issledovatel'skii universitet" (NIU
"BelGU") (RU)**

(54) **METHOD FOR PREDICTING RISK OF UTERINE MYOMA DEVELOPMENT IN WOMEN WITH GENITAL ENDOMETRIOSIS USING MOLECULAR GENETIC DATA**

(57) Abstract:

FIELD: medicine.

SUBSTANCE: invention relates to gynaecology and medical genetics, and can be used to predict the risk of developing uterine fibroids in women with genital endometriosis. DNA is isolated from peripheral venous blood. An analysis of the combination of polymorphisms of the NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 and PRMT6 genes is performed. When a combination of polymorphisms rs8023580 TC of the NR2F2 gene x rs440837 AA of the ZBTB10 gene x rs10454142 CC of the PPP1R21 gene x rs17496332 AA of the PRMT6

gene is detected, a high risk of developing uterine fibroids in women with genital endometriosis is predicted.

EFFECT: obtaining new criteria for assessing the risk of developing uterine fibroids in women with genital endometriosis of Russian nationality, who are natives of the Central Black Earth Region of the Russian Federation and are not related to each other, based on data on the combination of polymorphisms of the NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 and PRMT6 genes.

1 cl, 4 dwg, 3 ex

Изобретение относится к области медицины, а именно к диагностике и гинекологии, медицинской генетике, и может быть использовано для прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом.

Миома матки относится к наиболее распространенным доброкачественным опухолям женских половых органов как в перименопаузальном периоде (встречается более чем у 50% женщин), так и в репродуктивном возрасте [Giuliani E.; As-Sanie S.; Marsh E.E. *Epidemiology and management of uterine fibroids* // *Int J Gynaecol Obstet.* 2020. V. 149. № 1. P. 3-9]. Чаще всего миома матки выявляется у женщин в возрасте 35 лет, на возраст 35-55 лет приходится до 90% общего числа заболеваний [Ahmad A.; Kumar M.; Bhoi N.R.; Badruddeen; Akhtar J.; Khan M.I.; Ajmal M.; Ahmad M. *Diagnosis and management of uterine fibroids: current trends and future strategies* // *J Basic Clin Physiol Pharmacol.* 2023. V. 34. № 3. P. 291-310]. Миома матки является причиной нарушений менструального цикла, анемии, хронических тазовых болей [Marsh E.E.; Wegienka G.; Williams D.R. *Uterine Fibroids* // *JAMA.* 2024. V. 331. № 17. P. 1492-1493]. Нередко миома матки сочетается с эндометриозом (в 22-87% случаев). Раннее выявление миомы матки позволит более эффективно провести консервативное лечение и тем самым снизить риск оперативного вмешательства [Dai D.Q.; Huang Z.C.; Guo X.; Tang G.C. *Giant uterine leiomyoma: A diagnostic dilemma* // *Am J Med Sci.* 2023. V. 365. № 6. P. e102-e103].

Многие авторы указывают на патогенетическое сходство миомы матки и эндометриоза, обусловленное одинаковыми молекулярно-генетическими механизмами их возникновения [Marsh E.E.; Wegienka G.; Williams D.R. *Uterine Fibroids* // *JAMA.* 2024. V. 331. № 17. P. 1492-1493]. Проведенные полногеномные исследования (GWAS, genome-wide association studies) (<https://www.ebi.ac.uk/gwas/>) позволили выявить синтропные гены для миомы матки и эндометриоза (GREB1, WNT4/CDC42, ESR1 и FSHB).

Известно, что и эндометриоз, и миома матки относятся к гормонзависимым заболеваниям. Эстрогены, прогестерон и тестостерон играют значительную роль в этиопатогенезе данных болезней. За транспортировку и связывание половых гормонов ответственен глобулин, связывающий половые гормоны, который определяет уровни их биодоступных (активных) форм [Narinx N.; David K.; Walravens J.; Vermeersch P.; Claessens F.; Fiers T.; Lapauw B.; Antonio L.; Vanderschueren. *Role of sex hormone-binding globulin in the free hormone hypothesis and the relevance of free testosterone in androgen physiology* // *Cellular and molecular life sciences: CMLS.* 2022. V. 79. №11. P. 543]. По данным GWAS, установлены генетические варианты, ассоциированные с уровнями ГСПГ в организме [Coviello A.D.; Haring R.; Wellons M.; et al. *A genome-wide association meta-analysis of circulating sex hormone-binding globulin reveals multiple Loci implicated in sex steroid hormone regulation* // *PLoS Genetics.* 2012. V. 8. №7. P. e1002805]. Несмотря на обширность проведенных генетических исследований, на сегодняшний день роль генетических детерминант уровня ГСПГ в развитии миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом не была установлена.

В Российской Федерации отсутствуют исследования вовлеченности данных о полиморфизме генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6 в формирование предрасположенности к миоме матки у женщин с генитальным эндометриозом, отсутствуют данные о роли комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6 в развитии миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом.

Для оценки сложившейся патентной ситуации был выполнен поиск по охраняемым документам за период с 1990 по 2025 гг. Анализ документов производился по направлению: способ прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом в зависимости от данных о полиморфизме генов NR2F2,

ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6. Источник информации: сайт Федерального института промышленной собственности <http://fips.ru>.

В изученной научно-медицинской и доступной патентной литературе авторами не было обнаружено способа прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом на основе данных о комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6.

Известен патент (RU 2676035 C1, 25.12.2018) «Способ прогнозирования вероятности развития пролиферирующей миомы матки», который заключается в заборе крови и иммунологическом исследовании у пациенток с прогностическими факторами, установленными в ходе сбора анамнестических данных. В сыворотке крови определяют уровень интерлейкина-6 (ИЛ-6) и уровень ассоциированного с беременностью альфа-2-гликопротеина (АБГ) в сочетании с оценкой кровоснабжения миоматозных узлов, затем устанавливают скрининговые баллы для каждого фактора. Полученные баллы суммируют и при значении суммы скрининговых баллов более +20 прогнозируют пролиферирующую миому матки, а при +20 и менее прогнозируют простую миому матки.

Недостатком данного способа является то, что он позволяет прогнозировать вероятность развития пролиферирующей миомы матки, но не дает возможности прогноза развития миомы матки у пациенток с генитальным эндометриозом.

Известен патент (RU 2557954 C1, 27.07.2015) «Способ прогнозирования риска развития сочетанных пролиферативных заболеваний репродуктивной системы у женщин», который заключается в выделении ДНК из периферической венозной крови, проведении анализа комбинаций генетических вариантов полиморфных маркеров генов цитокинов гена регулятора активности нормальной экспрессии и секреции Т-клеток (-403 G/A RANTES), макрофагального воспалительного протеина -1 β (+1931 A/T MIP1 β), фактора стромальных клеток (-801 G/A SDF1), интерлейкина-1 (-511 C/T IL-1B), моноцитарного хемоаттрактанта протеина -1 (C/G MCP-1), интерлейкина-4 (-590 C/T IL-4). Повышенный риск развития сочетания миомы матки с эндометриозом и гиперпластическими процессами эндометрия прогнозируют при выявлении сочетания аллелей -403 A RANTES, G MCP-1, +1931 A MIP 1 β , -590 C IL-4 или сочетания аллелей -403 A RANTES, +1931 A MIP 1 β , -801 G SDF1, -511 C IL-1B.

Недостаток метода заключается в том, что он позволяет прогнозировать риск развития сочетания миомы матки с эндометриозом и гиперпластическими процессами эндометрия, которое среди женщин встречается значительно реже по сравнению с сочетанием миомы матки и генитального эндометриоза.

Задачей настоящего исследования является расширение арсенала способов диагностики, а именно создание способа прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом на основе данных о комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6.

Технический результат использования изобретения - получение критериев оценки риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой, на основе данных о комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6, включающий:

- забор периферической венозной крови;
- выделение ДНК из периферической венозной крови;
- анализ полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21, rs17496332 гена PRMT6;

- прогнозирование высокого риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом при выявлении комбинации полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 AA гена ZBTB10 x rs10454142 CC гена PPP1R21 x rs17496332 AA гена PRMT6.

Новизна и изобретательский уровень заключаются в том, что из уровня техники не известна возможность прогноза развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом на основе данных о комбинации полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 AA гена ZBTB10 x rs10454142 CC гена PPP1R21 x rs17496332 AA гена PRMT6.

Способ осуществляют следующим образом.

Выделение геномной ДНК из периферической венозной крови осуществляют методом фенольно-хлороформной экстракции [Miller S. A.; Dykes D.D.; Polesky H.F. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells // Nucleic. Acids. Res. 1988. V. 16. № 3. P. 1215] в два этапа. На первом этапе к 4 мл крови с ЭДТА добавляют 25 мл лизирующего буфера, содержащего 320мМ сахарозы, 1% тритон X-100, 5мМ MgCl₂, 10мМ трис-HCl (pH=7,6). Полученную смесь перемешивают и центрифугируют при 4°C, 4000 об/мин в течение 20 минут. После центрифугирования надосадочную жидкость сливают, к осадку добавляют 4 мл раствора, содержащего 25 мМ ЭДТА (pH=8,0) и 75 мМ NaCl, ресуспензируют. Затем прибавляют 0,4 мл 10% SDS, 35 мкл протеиназы К (10мг/мл) и инкубируют образец при 37°C в течение 16 часов.

На втором этапе из полученного лизата последовательно проводят экстракцию ДНК равными объемами фенола, фенол-хлороформа (1:1) и хлороформа с центрифугированием при 4000 об/мин в течение 10 минут. После каждого центрифугирования производят отбор водной фазы. ДНК осаждают из раствора двумя объемами охлажденного 96% этанола. После лиофилизации полученную ДНК растворяют в бидистиллированной, деионизованной воде и хранят при -20°C.

Анализ полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21, rs17496332 гена PRMT6 осуществлялся методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) на термоциклере CFX-96 Real-Time System (Bio-Rad) с использованием стандартных олигонуклеотидных праймеров и зондов.

Генотипирование исследуемых образцов осуществлялось с использованием программного обеспечения «CFX-Manager™» методом дискриминации аллелей по величинам относительных единиц флуоресценции (ОЕФ) (фиг.1, фиг.2, фиг.3, фиг.4).

Метод MDR в его модификации MB-MDR [Calle M.L.; Urrea V.; Malats N.; Van Steen K. Mbmdr: an R package for exploring gene-gene interactions associated with binary or quantitative traits // Bioinformatics. 2010. V. 26. № 17. P. 2198-2199] применялся для изучения интерлокусных взаимодействий, ассоциированных с развитием миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом. Рассматривались двух-, трех-, четырехлокусные модели. Расчеты проводили с ковариатами в программе MB-MDR (версия 2.6) в программной среде R. Наиболее значимые модели интерлокусных взаимодействий, связанных с миомой матки у женщин с генитальным эндометриозом, отбирались на основе поправки Бонферрони (при этом рассматривалось число возможных комбинаций, изучаемых SNPs генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6 при 2-, 3-, 4-локусных моделях). В дальнейший анализ (валидация моделей с помощью пермутационного теста) включались модели межлокусных взаимодействий, соответствующие следующим критериям: 2-х локусные модели - $p < 1,78 \cdot 10^{-3}$ ($< 0,05/28$), 3-х локусные модели - $p < 8,92 \cdot 10^{-4}$ ($< 0,05/56$), 4-х локусные модели - $p < 7,14 \cdot 10^{-4}$ ($< 0,05/70$). Для отобранных в соответствии с вышеуказанными критериями наиболее значимых моделей SNP x SNP взаимодействий,

ассоциированных с миомой матки у женщин с генитальным эндометриозом, выполнялся пермутационный тест (проводилось 1000 пермутаций). Статистически значимым считали $p_{perm} \leq 0,005$. Отдельные комбинации полиморфизмов, связанные с риском развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом определялись методом MB-MDR при $p < 0,05$.

Возможность использования предложенного способа для оценки прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом подтверждает анализ результатов наблюдений 310 пациентов, 207 из которых - женщины с генитальным эндометриозом в сочетании с миомой матки, (средний возраст - 43,16 лет, варьировал от 18 до 63 лет, $SD=7,46$) и 103 индивидуумы с изолированным генитальным эндометриозом (группа сравнения). Средний возраст группы сравнения составил 33,01 лет (варьировал от 18 до 65 лет, $SD=8,46$) и был сопоставим с возрастными характеристиками исследуемых групп больных. Изучаемые группы включали индивидуумов русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой. Всем женщинам проводилось комплексное клиническое, инструментальное и лабораторное обследование, включающее общеклинические (сбор жалоб, клинический анализ крови и мочи, биохимическое исследование крови и др.) и специальные методы исследования (гинекологическое обследование, забор мазков на онкоцитологическое исследование с области стыка многослойного плоского эпителия влагалищной части шейки матки и цилиндрического эпителия цервикального канала и исследование флоры цервикального канала и влагалищного содержимого, ультразвуковое сканирование органов малого таза и др.). Все исследования проводились под контролем этического комитета медицинского факультета Белгородского государственного университета с информированного согласия пациенток на использование материалов лечебно-диагностических мероприятий, связанных с заболеванием, для научно-исследовательских целей и протоколировались по стандартам этического комитета Российской Федерации.

При изучении SNP x SNP взаимодействий установлена генетическая модель, включающая наличие значимой четырёхлокусной модели, вовлеченную в формирование миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом, является полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21, rs17496332 гена PRMT6 ($p_{perm}=0,004$). С развитием заболевания наиболее значимая ассоциация выявлена для комбинации полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 AA гена ZBTB10 x rs10454142 CC гена PPP1R21 x rs17496332 AA гена PRMT6 ($\beta=2,05$ $p=0,044$), имеющая рисковую направленность.

В качестве примеров конкретного применения разработанного способа проведено генетическое обследование женщин русской национальности, являющихся уроженками Центрального Черноземья РФ и не имеющих родства между собой: проведено генетическое исследование по полиморфизмам rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21 и rs17496332 гена PRMT6.

У пациентки Н. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21 и rs17496332 гена PRMT6, была выявлена комбинация полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 AA гена ZBTB10 x rs10454142 CC гена PPP1R21 x rs17496332 AA гена PRMT6, что позволило отнести пациента в группу больных с повышенным риском развития миомы матки в сочетании с генитальным эндометриозом. Дальнейшее наблюдение подтвердило диагноз миомы матки у пациентки с генитальным эндометриозом.

У пациентки О. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21 и rs17496332 гена PRMT6, была выявлена комбинация полиморфизмов rs8023580 ТТ гена NR2F2 x rs440837 АА гена ZBTB10 x rs10454142 СС гена PPP1R21 x rs17496332 АА гена PRMT6, что позволило отнести пациентку в группу пациентов с низким риском развития миомы матки в сочетании с генитальным эндометриозом. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз у пациентки.

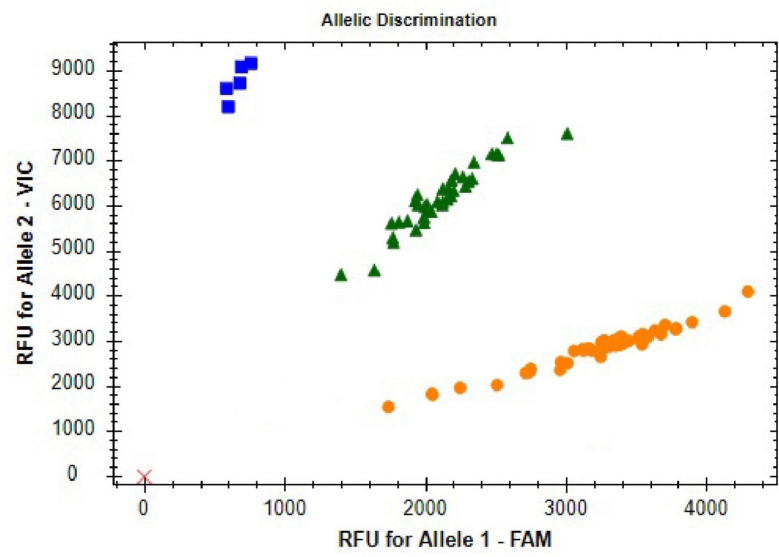
У пациентки Т. была взята венозная кровь, проведено генотипирование ДНК-маркеров, при анализе вовлеченности полиморфизмов rs8023580 гена NR2F2, rs440837 гена ZBTB10, rs10454142 гена PPP1R21 и rs17496332 гена PRMT6 была выявлена комбинация полиморфизмов rs8023580 СС гена NR2F2 x rs440837 GG гена ZBTB10 x rs10454142 СС гена PPP1R21 x rs17496332 AG гена PRMT6, что позволило отнести пациентку в группу больных с низким риском развития миомы матки в сочетании с генитальным эндометриозом. Дальнейшее наблюдение не подтвердило диагноз эндометриоз у пациентки.

Применение данного способа позволит на доклиническом этапе формировать среди женщин группы риска и своевременно реализовывать в этих группах необходимые лечебно-профилактические мероприятия по предупреждению развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом.

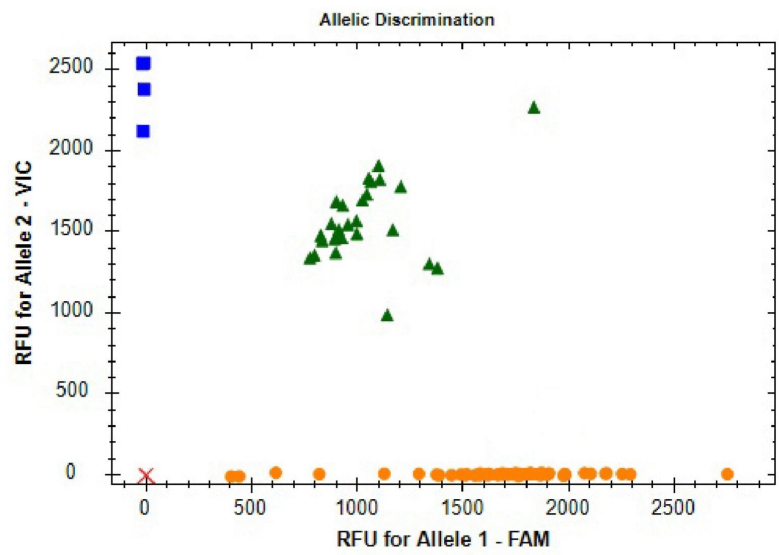
(57) Формула изобретения

Способ прогнозирования риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом, включающий выделение ДНК из периферической венозной крови, анализ комбинации полиморфизмов генов NR2F2, ZBTB10, PPP1R21 и PRMT6, прогнозирование высокого риска развития миомы матки у женщин с генитальным эндометриозом при выявлении комбинации полиморфизмов rs8023580 TC гена NR2F2 x rs440837 АА гена ZBTB10 x rs10454142 СС гена PPP1R21 x rs17496332 АА гена PRMT6.

1

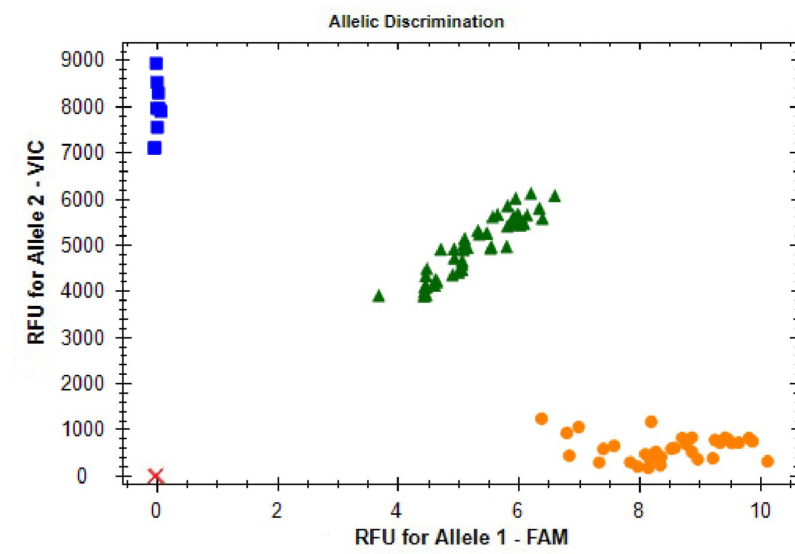


Фигура 1

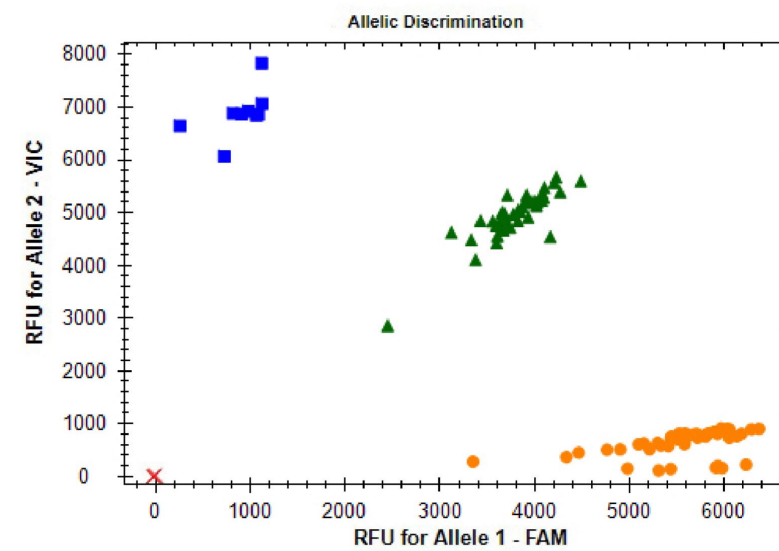


Фигура 2

2



Фигура 3



Фигура 4